Rispettoso omaggio dell'A.

ESTRATTO

DAL

Monitore Zoologico Italiano

Anno XV — N. 12.

FIRENZE.

CLINICA DERMOSIFILOPATICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PARMA DIRETTA DAL PROF. V. MIBELLI

Di un metodo nuovo e semplice per la dimostrazione dei filamenti epiteliali nella pelle

DEL DOTT. A. PASINI



FIRENZE

TIPOGRAFIA LUIGI NICCOLAI

—

1904

CLINICA DERMOSIFILOPATICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PARMA DIRETTA DAL PROF. V. MIBELLI

Di un metodo nuovo e semplice per la dimostrazione dei filamenti epiteliali nella pelle

DEL DOTT. A. PASINI

I metodi che furono fino ad ora proposti per la ricerca dei filamenti epiteliali nella cute umana, presentano tutti un duplice inconveniente; quello di richiedere l'impiego di una tecnica istologica alquanto complicata, e di fallire in molti casi ad un risultato completo e sicuro.

Recentemente io sono riuscito a mettere in pratica un nuovo metodo, con il quale mi sembra di avere ovviato ai suddetti inconvenienti, unendo il procedimento da me seguito alla semplicità della tecnica la sicurezza del risultato.

A stabilire questo nuovo metodo io giunsi, prendendo le mosse da alcune ricerche da me eseguite, or è pochi mesi, nel Laborato-

rio di Unna in Amburgo, in uno studio sulle x *zellen* nell'epitelioma cutaneo (1). Ho stabilito allora, che è possibile ottenere la differenzazione tintoriale di tutti gli elementi istologici, acidi e basici, che entrano a costituire la epidermide umana, usando solo sostanze coloranti acide, ed ho portato una modificazione radicale al metodo proposto da Unna, or compie un anno, per la dimostrazione dei filamenti epiteliali (2), sostituendo alla sostanza colorante basica da Lui usata, la Saffranina, una sostanza colorante acida, la Fucsina acida.

La modificazione da me allora proposta non è priva di importanza nella tecnica istologica, giacchè ci permette di trarre una conclusione di indole generale, e cioè: che è possibile ottenere la differenziazione tintoriale di tutti gli elementi di un tessuto, qualunque sia la loro reazione chimica, usando solamente sostanze coloranti acide quando prima gli elementi del tessuto siano stati opportunamente sensibilizzati.

Seguendo questo principio io ho istituito una serie di ricerche, allo scopo di trovare una sostanza, la quale fosse capace di sensibilizzare nella epidermide umana tutti gli elementi istologici a diversa reazione chimica che la costituiscono, e di impartire perciò agli stessi nuove affinità tintoriali, che ne permettessero la dimostrazione. Tralascio di riferire la numerosa serie di sostanze inutilmente impiegate durante le mie ricerche, e dico subito che l'unica che ha corrisposto al mio scopo è stato l'Acido Fosfo-wolframico.

Questo acido in soluz. acquosa mi risultò dotato di una proprietà molto strana verso il tegumento cutaneo, giacchè, mentre impartisce a tutti gli elementi di questo una reazione acida spiccata, che è controllabile dalla colorazione intensissima ed omogenea che essi assumono con le sostanze tintoriali basiche, impartisce a ciascuno di essi una speciale affinità tintoriale verso sostanze aventi pure una reazione chimica acida.

E' questo un fatto analogo a quello che io avevo già verificato quando ottenni, nel metodo di Unna per i filamenti epiteliali, la colorazione dei nuclei e dei filamenti stessi sostituendo la Fucsina acida alla Saffranina. V'ha però fra il metodo che io allora proposi, e quello che ora espongo una differenza sostanziale; in quello la sensibilizzazione verso la Fucsina acida degli elementi istologici ad analoga reazione chimica (nuclei, filamenti epiteliali) è affidata alle stesse sostanze coloranti acide prima impiegate — Wasserblau +

---

(1) A. Pasini — X zellen und hyaline körperchen im Hautepitheliom. *Monatsh f. prankt Dermat. Bd. 39, 1904.*

(2) Unna — *Monatsh. f. praht. Dermat. Bd 37, n. 7 e 8.*

Orceina acida + Eosina —; nel metodo attuale gli elementi istologici della epidermide sono sensibilizzati prima di venire in contatto con la miscela Wasserblau + Orceina acida + Eosina, e le sostanze che entrano a costituire questa, non hanno più l'ufficio di un semplice mordente, ma quello di un vero colorante, con affinità tintoriali spiccate e specifiche verso i differenti elementi istologici della epidermide. Nel metodo di Unna la colorazione dei nuclei e dei filamenti epiteliali è affidata ad una sostanza basica, la Saffranina, e nulla si ottiene senza l'impiego di essa. Nella modificazione prima da me proposta la stessa colorazione è dovuta alla Fucsina acida. Nel metodo che sto per riferire, io ottengo una elettiva colorazione dei filamenti epiteliali e dei nuclei con la Eosina, con una sostanza cioè che nei metodi predetti non ha mai avuto l'ufficio di colorante.

Anche nel mio procedimento attuale io impiego una piccola quantità di Fucsina acida, giacchè questa mi è risultata un buon adiuvante a dare una maggiore intensità alla colorazione rossa della Eosina: insisto però sul fatto, che solo l'Eosina deve essere considerata come il vero colorante dei filamenti epiteliali e dei nuclei: infatti è facile ottenere dei buonissimi risultanti anche senza l'impiego della Fucsina acida, ed è invece impossibile alcuna dimostrazione dei filamenti epiteliali e delle sostanze nucleari omettendo la Eosina, e lasciando al suo posto la sola Fucsina acida.

Esposto in tal modo come giunsi a stabilire questo mio nuovo metodo, e le differenze che passano fra esso e quello proposto da Unna, passo ora a descriverlo.

Si fissano i pezzi anatomici e si induriscono in alcool assoluto: anche la fissazione in soluz. acquosa satura di $HyCl^2$ dà risultati positivi, meno buoni però di quelli che si ottengono usando l'alcool. Si fa la inclusione in celloidina od in paraffina, e si seziona al microtomo, procurando di ottenere delle fette aventi uno spessore non superiore ai 10 μ: pei pezzi inclusi in paraffina le fette non devono essere incollate al vetrino.

Le sezioni dall'acqua distillata si immergono per 5-10 minuti in una soluz. acquosa al 2 °/o di Acido Fosfo-wolframico (Merck).

Da questa soluz. le sezioni, dopo una breve lavatura in acqua distillata, si passano per 15-20 minuti nella seguente miscela colorante: X gocce *Wasserblau-Orcein Mischung* (Grübler) + XII gocce di Eosina B. A. (Grübler) al 2 °/o in alcool a 50° + I goccia di soluz. acquosa satura di Fucsina acida o di Rubina acida + V gocce glicerina neutra.

La miscela Wasserblau-Orceina può esser preparata da ognuno

con la seguente formula di Unna: Wasserblau 1.0: Orceina 1.0: Acido Acetico 5.0: Glicerina 20.0: Alcool 50.0: Acqua stillata 25.0.

Per la soluzione di Eosina è della massima importanza la scelta della sostanza colorante: in numerosi esperimenti io ho trovato, che fra le sei Eosine che mette in commercio la casa Grübler di Lipsia, la migliore per la colorazione dei filamenti epiteliali è la Eosina B. *A.*, e che buone sono anche la *Eosin wasserlöslich gelbl.* e la *Eosin rein (französ) f. Blutkpfärbung,* del tutto disadatte sono invece la *Eosin A. G.*, la *Eosin spirituslöslich*, e la *Eosin bläulich wasserlöslich.*

Dalla miscela colorante le sezioni si passano per qualche minuto in acqua distillata, e da questa nell'alcool assoluto; dal primo alcool è utile il ritornare per qualche secondo la sezione colorata nella prima soluzione di Acido Fosfo-wolframico, si torna quindi a disidratare in una breve serie di alcool assoluto, si rischiara con lo xilolo, e si monta in Balsamo del Canadà.

La colorazione può quindi essere suddivisa nei seguenti tempi:

1.° 10 minuti in soluz. acq. 2 °[o di Acido Fosfo-wolframico.

2.° Breve lavaggio in acqua distillata.

3.° 15-20 minuti nella miscela colorante: X gocce miscela Wasserblau-Orceina + XII gocce Eosina B. A. al 2 °[o in alcool a 50.° + I goccia soluz. acq. satura fucsina acida + V gocce Glicerina neutra.

4.° Lavaggio in acqua distillata.

5.° Alcool assoluto.

6.° Ritorno per qualche secondo nella soluzione di Acido Fosfo-wolframico.

7.° Alcool assoluto. Xilolo. Balsamo.

Seguendo questa tecnica io ho ottenuto costantemente la dimostrazione chiara e sicura dei filamenti epiteliali, sia nella epidermide normale, che nelle produzioni patologiche che da questa provengono: condilomi acuminati, epiteliomi, corni cutanei, neoformazione epiteliale in un caso di tubercolosi verrucosa ecc. I filamenti epiteliali ed i nuclei restano coloriti in rosso scuro, e spiccano in mezzo alle cellule del corpo mucoso, il cui protoplasma assume una bella tinta celeste; i granuli di cheratojalina restano pure coloriti in rosso: lo strato lucido si differenzia, nella epidermide normale, come una linea omogenea rosso carico, scorrente al di sopra dello strato granuloso: lo strato corneo è tinto in rosso giallastro. Tutti gli elementi del derma assumono un colorito omogeneo bleu intenso, ad eccezione dei nuclei che si tingono in rosso carico.

Nella epidermide normale la dimostrazione dei filamenti epiteliali è meno facile che nei tessuti patologici, dei quali ho detto più sopra. In ogni caso, per meglio osservare le maggiori finezze istologiche, è indispensabile una fortissima illuminazione del preparato, facendovi giungere con lo specchio piano il maggior fascio luminoso bianchissimo di una reticella ad incandescenza a gas, o meglio ancora di una lampada ad incandescenza ad alcool.

Il mio metodo attuale credo abbia pertanto una superiorità su quelli che furono fino ad ora proposti per la ricerca dei filamenti epiteliali, e perchè permette di servirsi di pezzi induriti in alcool, e per la sua semplicità, e per i risultati evidenti e sicuri che esso fornisce in ogni caso.
